Mikrobiologische Untersuchungen über das Auftreten von Schwefelwasserstoff in den anaeroben Zonen des Hochmoores.

Auszug
der

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur
Erlangung der Doktorwürde
verfaßt und
der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Julius - Maximilians - Universität zu Würzburg

Tag der mündl. Prüfung:
20.Februar. 1957.

vorgelegt von
Irmgard B e n d a
aus Teschen

1956

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

In den letzten 20 Jahren ist die Bedeutung mikrobiologischer Vorgänge bei der Bildung der Moore immer mehr in den Vordergrund gerückt. Dabei nehmen die Hochmoore eine besondere Stellung ein. Durch die extremen Bedingungen, die in ihnen infolge hoher Azidität, geringen Mineralstoffgehalts und hohen Wasserstands herrschen, ist der Artenreichtum ihrer Mikroflora wesentlich eingeengt und kann in seiner Gesamtheit als konstant betrachtet werden. Deshalb bieten die Hochmoore nach BURGEFF (1954 u. 1956) einen geeigneten Raum für das Studium mikrobiologischer Lebens- und Abbauvorgänge.

Diese Erkenntnis führte zur Isolierung von Hochmoorpilzen (WOLF 1954) und -Bakterien (KOX 1954) und zum Studium ihrer Tätigkeit und Bedeutung innerhalb des von ihnen bewohnten Raumes (BURGEFF 1954 u. 1956; REUTHER 1956).

Befassen sich die oben erwähnten Untersuchungen mit den Vorgängen, die sich in den aeroben Bereichen des Hochmoores abspielen, so führt die vorliegende Arbeit in die anaeroben Zonen.

Diese sind gekennzeichnet durch das Auftreten von Schwefelwasserstoff, der wesentlich in die Umwandlungs- und Lebensvorgänge im Hochmoor eingreift. Zum Teil im Wasser gelöst, schafft er streng anaerobe Verhältnisse für die in seinem Bereich lebenden Mikroorganismen. Als giftiges Agens - nach BERSIN (1950) wirkt er schon in geringen Konzentrationen als Zerstörer lebenswichtiger Redoxasen - ist er mitbeteiligt an der Einengung der Mikroflora, da viele Organismen unter seinem Einfluß nicht zu leben vermögen.

Ferner greift er in rein chemische Prozesse ein, wie z. Bsp. bei der Reduktion der niedermolekularen Melaninvorstufen. Dadurch wird sein Auftreten auch sichtbar, weil er dem Torf eine gelb-graue Farbe verleiht, die bei Berührung des Torfs mit Sauerstoff oxydativ wieder in braun umschlagen kann.

Die Grenze zwischen aerober und anaerober Zone kann

man anhand eines Moorprofils auf diese Weise ablesen. Sie deckt sich mit derjenigen, die sich auf einem versilberten Metallstab abzeichnet, der in das Moor gesteckt und daselbst 24 Stunden belassen war. - Bildung von Ag_2S.- Auf Grund der durch das Ag_2S verursachten Schwärzungsintensität am Stab erhält man außerdem einen Überblick über die Stärke der H_2S-Bildung in den verschiedenen Tiefen des Moores.

Wir stellten die Frage, welchen Schwefel-Verbindungen der immer wieder auftretende Schwefelwasserstoff entstammt und welche Organismen zu seiner Bildung beitragen.

Dabei konnten unter einer Anzahl von mikrobiellen Bildungsweisen des Schwefelwasserstoffs für das Hochmoor zwei Arten festgestellt werden:

1. die Reduktion von Sulfaten zu H_2S und
2. der Eiweißabbau unter Abspaltung von H_2S.

Diese beiden Möglichkeiten wurden von uns untersucht.

Das Mikrobenmaterial wurde mit Hilfe von besonders angefertigten Glassonden aus verschiedenen Tiefen des Hochmoores steril entnommen. Die Kultivierung der Organismen geschah in Anaerobiergefäßen, in denen die Luft durch völlig sauerstoffreien Stickstoff verdrängt wurde (Reinigung des Stickstoffs mittels aktiven Kupfers nach MEYER u. RONGE 1939).

1. Die Sulfatreduktion.

Die Sulfatreduktion stellt eine streng spezifische Eigenschaft für eine bestimmte Bakteriengruppe dar. Erstmals von BEIJERINCK (1895) isoliert, liegen inzwischen zahlreiche Untersuchungen über sulfatreduzierende Bakterien vor. (U.a.: CZURDA 1940, STARKEY 1948/50, BUTLIN 1947/49, POSTGATE 1951, SENEZ 1954).

Die Sulfatreduzierer gewinnen ihre Lebensenergie aus der Dehydrierung organischer Stoffe. Dabei dient ihnen Sulfat als Wasserstoff-Acceptor. Ein Teil der gewonnenen Energie wird bei der Reduktion der Sulfate zu H_2S verbraucht.

Inwieweit sind die Bedingungen für das Vorkommen von Sulfatreduzierern im Hochmoor gegeben?
Das Vorhandensein von Sulfaten im Hochmoor ist bekannt. Ihre ständige Zufuhr ist nach FIRBAS (1952) durch ihren Gehalt im Regenwasser gegeben. Sie beträgt nach DRISCHEL (1940) 1,5-2 mg Sulfat-S/pro Liter Regenwasser in ländlichen Gebieten, d.h. bei einem Jahresniederschlag von 700 mm 10,5-14 kg/pro ha Sulfat-S jährlich.

Die zum Gedeihen von sulfatreduzierenden Bakterien nötigen organischen Stoffe sind durch den Abbau der Pflanzen im Moor ebenfalls vorhanden. Schließlich ist durch den hohen Wasserstand im Hochmoor für anaerobe Bedingungen gesorgt.

Unsere Untersuchungen zeigten, daß Sulfatreduzierer tatsächlich in allen anaeroben Schichten des Moores - vereinzelt noch bis zu 1 m Tiefe - vorkommen.

Wir konnten das in der Literatur mehrfach beschriebene und nach der neuen Nomenklatur als Desulfovibrio desulfuricans (KLUYVER & VAN NIEL 1936; BERGEY 1948) benannte Bakterium isolieren, ein beweglicher Vibrio von 3-5 x 1 μ Größe; nach längerer Kultur und zunehmender Isolierung in flüssigem Medium tritt er oft als Spirillum mit einer, ja z.T. mit bis zu drei ganzen Windungen auf und erreicht dabei bis zu 7,5 μ Länge. Die Isolierung bereitet Schwierigkeiten, weil er eng mit anderen Bakterien vergesellschaftet ist. In Reinkultur zeigt er nur ein ganz schwaches Wachstum und geringe physiologische Aktivität.

Als Energiequelle vermag der aus dem Hochmoor isolierte Stamm in vitro Glucose, Pepton, Cystin und Tartrat gut, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Acetat und Butyrat nur zögernd zu verwerten. Maltose, Lactose und Bernsteinsäure werden nicht abgebaut.

Außer Sulfat vermag der Stamm Sulfit, nicht aber Thiosulfat zu Schwefelwasserstoff zu reduzieren.

Desulfovibrio erweist sich je nach den Kulturbedingungen als stark pleomorph.

Auf Grund der morphologischen und physiologischen Eigenschaften zeigt der aus dem Hochmoor isolierte Stamm

nahe Verwandtschaft zu Spirillum des.BEIJERINCK.

Eigenartig sind die p_H-Ansprüche dieses Organismus in Bezug auf seinen Standort. Unsere Messungen im Moor ergaben einen p_H-Durchschnitt von 4,1-4,3. In diesem p_H-Bereich war in der Kultur kein Wachstum zu erzielen. In Rohkultur, also im Beisein der natürlichen Begleitorganismen, erzielten wir eine Reduktion von Sulfaten ab p_H 4,6, wenn auch von vornherein langsamer als bei p_H um 7. Nach längerer Kultur und fortschreitender Isolierung verschob sich der p_H-Anspruch der Sulfatreduzierer immer weiter nach oben, bis dieselben nur noch in einem p_H-Bereich von 6,5 und höher tätig waren.

Auf Grund dieser Beobachtungen sind wir zu der Annahme gelangt, daß sich am sauren Standort durch Stoffwechselprodukte der Begleitorganismen oder Abbauprodukte, wie NH_3, jeweils eine Erhöhung des p_H-Wertes in Mikroräumen ergibt, wie sie nach LAATSCH (1954) auch in sauren Böden stattfindet. Diese schafft dann ein geeignetes Milieu für die Sulfatreduzierer und ihren Stoffwechsel. Außerdem geht von den Begleitorganismen zweifellos noch eine wachstumsfördernde Wirkung auf die Sulfatreduzierer aus.

Das reiche Vorkommen von Sulfatreduzierern im Hochmoor muß als Beweis für ihre physiologische Tätigkeit und Verantwortlichkeit für auftretenden Schwefelwasserstoff im Hochmoor anerkannt werden.

2. Der Eiweißabbau.

Neben der Schwefelwasserstoffbildung aus Sulfaten maßen wir dem Eiweißabbau im Hochmoor eine Bedeutung zu. Die Möglichkeit eines Eiweißabbaues ist in der Hauptsache gegeben durch seinen Gehalt an Pflanzen-, vor allem Sphagnum-Eiweiß und sekundär gebildetem Mikroben-Eiweiß. Nach WAKSMAN (1930) beträgt der durchschnittliche Eiweißgehalt deutscher Hochmoore 5,78% der Trockensubstanz, nach BENADE (1954) auf Grund von zwei Beispielen 2,2 - 4%, gerechnet in % des organischen Materials.

Die Bakterien der anaeroben Zonen wurden auf ihr Vermögen, Eiweiß abzubauen, geprüft. Einige eiweißzersetzende Stämme konnten isoliert werden. Diese vermögen den Proteinbaustein Cystin gut abzubauen; Methionin hingegen kann als Kohlenstoff-Quelle nicht verwertet werden.

Sphagnum-Eiweiß wird innerhalb von 3 Monaten von natürlichen Bakteriengemischen aus dem Hochmoor nicht angegriffen. Unter dem synergetischen Einfluß einiger Hochmoorpilze erfolgt ein sofortiger Abbau.

Der Einfluß dieser Pilze beruht auf einem Stimulierungseffekt. Eine Belieferung der Bakterien mit Protein-Spaltprodukten oder die Unschädlichmachung einer bakteriostatischen Substanz im Sphagnum durch den Pilz kann nicht als Ursache für die Förderung angesehen werden.

Ganz allgemein ist jedoch der Eiweißabbau nicht unbedingt eine spezifische Eigenschaft bei Bakterien. Darum war uns der lediglich Nachweis über das Vorkommen eiweißzersetzender Bakterien in den anaeroben Zonen des Hochmoores nicht beweiskräftig genug für einen tatsächlich noch stattfindenden Eiweißabbau in diesem Bereich. Es kam die Frage auf, ob das Eiweiß nicht bereits in der aeroben Abbauschicht des Hochmoores (Schwarzschicht) von den dort lebenden Organismen vollständig abgebaut wird . In diesem Falle käme das Eiweiß als Quelle für anaerob gebildeten Schwefelwasserstoff nicht mehr in Betracht.

Wir versuchten diese Frage auf chemischem Wege zu klären. Papierchromatographische Untersuchungsergebnisse über den Gehalt verschiedener Torf-Hydrolysate an Cystin und Methionin ergaben ein einwandfreies Bild vom Eiweißabbau in den einzelnen Schichten eines Hochmoorprofils. Sie beweisen einen Eiweißabbau im anaeroben Bereich des Hochmoores und stimmen mit den Abbauversuchen in vitro gut überein.

Der Cystingehalt erfährt in der aeroben Abbauzone (Schwarzschicht) eine geringe Zunahme gegenüber der lebenden Sphagnum-Schicht und erklärt sich aus dem zusätzlichen Auftreten von Mikrobeneiweiß in der Schwarz-

schicht. In der Haupt-H_2S-Zone erfährt das Eiweiß einen starken Abbau, dadurch zeigt sich ein Absinken des Cystin-Gehalts in dieser Zone. Unterhalb der H_2S-Zone kann man keinen oder nur noch einen ganz geringen Cystingehalt feststellen.

Das Methionin ließ sich in allen Zonen gut nachweisen, zeigte aber nur eine ganz geringe Abnahme nach unten hin.

Damit kann eine Schwefelwasserstoff-Bildung aus Eiweiß über Cystin in den anaeroben Schichten des Hochmoores als erwiesen gelten. Weiter kann daraus geschlossen werden, daß Methionin auch im Moor nur schwer von den Bakterien angegriffen werden kann und an einem Beitrag zur Schwefelwasserstoff-Bildung nicht beteiligt ist.

Beim Eiweißabbau im Hochmoor treten gleiche Probleme wie bei der Sulfatreduktion auf. Das p_H-Optimum für die Desaminasen liegt in einem p_H-Bereich von 5-9 (GALE 1951). Das zeigen auch die in vitro ausgeführten Abbauversuche an Cystin. Im sauren Hochmoor müssen auch bei diesen Vorgängen Mikroräume mit erhöhtem p_H-Wert eine Rolle spielen. Nur vermögen die eiweißabbauenden Bakterien durch die Art der gebildeten Abbauprodukte bei der Desaminierung, in deren Verlauf sich die Desulfurierung abspielt, sich diese p_H-begünstigende Umgebung selber zu schaffen.

Zusammenfassend geht aus den Untersuchungen hervor, daß sowohl die Sulfatreduktion, als auch der Eiweißabbau als Ursache für ein Auftreten von Schwefelwasserstoff im Hochmoor anzusehen ist. Diese Vorgänge spielen sich im Hochmoor unter ungewöhnlichen Bedingungen ab.

Literaturverzeichnis.

BEIJERINCK,W.M.: Cbl.Bakt.II,1,1-9 u.s.w.(1895).

BENADE,W.: Mikrobiologie der Moore. Länderverl.Linz a/D. (1954).

BERGEY: Manual of determinative Bacteriology. Baltimore, William and Wilkins (1948).

BERSIN,Th.: Adv.Enzymology 10, 223-323 (1950).

BURGEFF,H.: 8e Congrès Intern. de Botanique, Rapp. et Comm., Sect. 7 et 8, Paris (1954), 154-156.

BURGEFF,H.: Ber.Dtsch.Bot.Ges., 69, 257-262 (1956).

BUTLIN,K.R. and I.POSTGATE: Chemistry Res. 23-28 (1947) u. 20-26 (1948).

BUTLIN,K.R., ADAMS,MARY,E. and THOMAS: J.Gen.Microbiol.3, 46-59 (1949).

CZURDA,V.: Arch.f.Mikrobiol.11, 187 (1940).

DÖRFEL,H. in:LINSKENS,H.F.: Papierchromatographie in der Botanik. Springer Göttingen, 105-135 (1955).

DRISCEL,H.: Der Balneologe 7, 321-334 (1940).

FIRBAS, F.: Veröff.d.Geobot.Inst.Rübel in Zürich,H.25,177-200 (1952).

GALE,E.F.: The chemical activities of bacteria. Academic Press Inc. New York (1951).

KLUYVER,J.u.C.B. VAN NIEL: Cbl.Bakt.II 94, 369 (1936).

KOX,E.: Arch.f.Mikrobiol. 20, 111-140 (1954).

LAATSCH,W.: Dynamik der mitteleuropäischen Mineralböden, Th. Steinkopff-Verl. Dresden (1954).

MEYER,F.R.u.G.RONGE: Angew.Chem.52, 637 (1939).

POSTGATE,J.R.: Journ.Gen.Microbiol.5, 714-727 u.s.w. (1951).

REUTHER,G.: Dissertation Würzburg (1956).

SENEZ,J.: Bull.Soc.Chim.biol. 36, 541 (1954).

SENEZ,J.: et J.LEROUX-GILLERON: Bull.Soc.Chim. biol. 36, 553-559 (1954).

STARKEY,R.L.: J.Am.Waterworks Assoc. 40, 1291-1298 (1948).

SRARKEY,R.L.: Soil Sci. 70, 55-65 (1950).

WAKSMAN,S.A.: American J.of Sci. 19, 32-54 (1930).

WOLF,E.: Cbl.Bakt.II, 107, 523-548 (1954).